

## МОРФОЛОГИЯ ФАЗ РАЗВИТИЯ СОСАЛЬЩИКА *METORCHIS INTERMEDIUS* (OPISTHORCHIIDAE) ИЗ БАКЛАНА

Н. В. Вышкварцева

Кафедра зоологии беспозвоночных Ленинградского государственного университета

В работе дано описание жизненного цикла, морфологии личиночных стадий и партеногенетических поколений *Metorchis intermedius* (сем. *Opisthorchiidae*), паразита желчного пузыря баклана *Phalacrocorax carbo*. Прослежено развитие мирацидия, редии, церкарии и метацеркарии.

Жизненный цикл *M. intermedius* был впервые расшифрован Хейнеманом (Heinemann, 1937). Описание метацеркарии этого вида содержится в работах Чиуреа (Ciurea, 1917, по Heinemann, 1937) и Дубинина (1952). Однако многие вопросы (строение сложного яйца, морфология мирацидия, сроки развития от яйца до церкарии, особенности биологии церкарии и др.) остались неизученными.

Жизненный цикл *M. intermedius* протекает со сменой трех хозяев. Марита червя паразитирует в желчном пузыре и его протоках у ряда водоплавающих птиц (утиные, бакланы). Первым промежуточным хозяином служат моллюски *Bithynia tentaculata*. Мирацидии в воду не выходят, и заражение моллюсков происходит при поедании ими инвазивных яиц, выброшенных с экскрементами птиц. В моллюске, по-видимому, развивается два партеногенетических поколения: материнские спороцисты и редии. Однако обнаружить материнскую спороцисту пока не удалось. Редии локализуются в печени моллюска. Они отрождают церкарий, которые после кратковременного паразитирования в печени и гемолимфе хозяина выходят в воду.

Вторым промежуточным хозяином служат рыбы из семейства *Syrinidae*, в которых церкарии активно вбуравливаются. Метацеркарии становятся инвазивными на 15—17-й день. Заражение окончательного хозяина происходит при поедании им рыб, содержащих зрелых метацеркарий. Метацеркарии экцистируются под влиянием пищеварительных соков хозяина и активно проникают в печень через желчный проток.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Мариты *M. intermedius* были получены из желчных пузырей бакланов, отстрелянных на территории Астраханского заповедника. Половозрелые черви для мацерации тканей помещались на сутки в воду, после чего яйца извлекались из матки червя препаратальными иглами и оставляли на двое-трое суток в солонках. Когда на дне солонки появлялась тонкая бактериальная пленка, в них помещали моллюсков, которые поедали вместе с пленкой и яйца.

В эксперименте использовали *Bithynia tentaculata*, собранные в водоемах Ленинградских парков, где естественное заражение их *M. intermedius* было исключено. Подопытные моллюски содержались в кристаллизаторах при температуре 22—24° и подкармливались водорослями и

размоченными кленовыми листьями. Через полтора месяца после начала опыта в печени одного вскрытого моллюска было обнаружено большое количество мелких редий почти одинакового размера. Редии оказались еще очень молодыми и лишь в некоторых из них содержалось до 8 зародышевых шаров. Выход церкарий из зараженных моллюсков начался лишь через 5 месяцев. Отдельные моллюски начали выделять церкарий только через 6—7 месяцев.

Для получения метацеркарий в сосуд с церкариями помещали мальков разных видов карповых рыб. Предварительно, путем контрольных вскрытий, было установлено, что мальки не были заражены описторхидами. Полученные в эксперименте церкарии оказались морфологически идентичными личинкам из спонтанно зараженных моллюсков, собранных в водоемах Астраханского заповедника. Морфология личиночных фаз и партеногенетических поколений изучалась в основном на живых объектах. Применение фазово-контрастного устройства при исследовании церкарий и метацеркарий положительного результата не дало из-за сильной пигментации их тела.

Для выяснения деталей строения были применены гистохимические методы. Исследование особых слизистых желез у развивающихся церкарий велось по методу Ито и Ватанабе (Ito a. Watanabe, 1958) на мазках, фиксированных жидкостью Шаудина и окрашенных спиртовым раствором толудинового синего. Наличие сенсилл у церкарий и редий определялось серебрением по методу, предложенному Гинецинской и Добровольским (1963). Морфология нервной системы церкарий изучалась с помощью гистохимической реакции на ацетилхолинэстеразу по методу Келле (Котикова, 1967). Строение полового зачатка метацеркарий исследовалось на тотальных препаратах, окрашенных квасцовым кармином. Личинки извлекались с этой целью из цист с помощью препаровальных игл. Для подсчета числа клеток, входящих в состав тела мирацидия, использовалась предложенная Добровольским (1967) методика изготовления мазков из содержимого кишечника моллюсков, которым за 3—4 часа до этого были скормлены яйца паразита. Несколько подопытных моллюсков было зафиксировано жидкостью Буэна через 4 и 11 часов и через один и полтора месяца после заражения. Изготавливавшиеся затем серии срезов толщиной 7—10 мк окрашивались гематоксилином Бемера. Подробно изучалась биология церкарии и метацеркарии. Этому вопросу будет посвящена самостоятельная статья.

#### МОРФОЛОГИЯ ФАЗ РАЗВИТИЯ

**С л о ж н о е я й ц о и м и р а ц и д и й.** Зрелые яйца *M. intermedius* размером 0.014—0.016 мм снабжены крышечкой и утолщением в виде валика в месте соединения скорлупки и крышечки. Только что сформированное сложное яйцо содержит одну крупную яйцеклетку и 2—4 желточные клетки (рис. 1, а). Развитие зародыша полностью происходит во время продвижения яиц по петлям матки. Яйца, находящиеся в ее дистальном отделе, уже содержат инвазивных личинок (рис. 2, а). В состав тела личинки входит 6—7 соматических клеток с крупными ядрами, богатыми хроматином (рис. 2, в). Центральную ее часть занимают 2 расположенные одна за другой двухъядерные железы проникновения (апикальные железы). Широкие протоки этих желез открываются терминально на переднем конце тела. Сбоку от желез проникновения располагается трубковидная железа вылупления с гомогенным и сильно преломляющим свет содержимым. Ее узкий выводной проток тянется к переднему концу тела, где и открывается наружу. Секрет этой железы расходуется в процессе вылупления мирацидия, так что у личинки, вышедшей из яйца, железа вылупления сильно уменьшена в размерах или даже совсем отсутствует. В задней половине тела мирацидия находятся 2 генеративные клетки. Экскреторная система представлена двумя мерцательными клетками.

Вышедший из яйца мирацидий обладает небольшими размерами ( $0.280 \times 0.117$  мм). Он очень подвижен благодаря ресничкам, одевающим все его тело, за исключением апикальной папиллы. Довольно длинные реснички постепенно укорачиваются по направлению спереди назад (рис. 2, б).

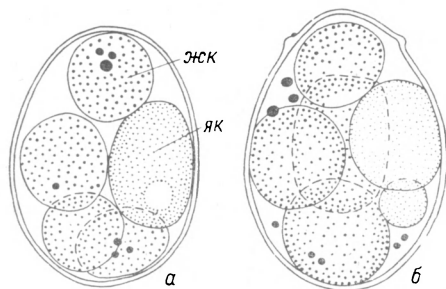


Рис. 1. Строение сложного яйца *M. intermedius*.

а — сформированное яйцо; б — начало дробления; як — яйцеклетка; жк — желточные клетки.

Редия. Форма и размеры редий значительно варьируют в зависимости от возраста (рис. 3). Длина их колеблется от 0.149 до 1.693 мм, ширина от 0.046 до 0.182 мм. Молодые редии представляют собой мешкообразные, прозрачные организмы, лишённые пигментации (рис. 3, а). На переднем конце тела располагается округлая мускулистая глотка, которая ведет в короткий кишечник. По бокам от кишечника лежат 2 гроздьевидные группы слюнных желез по 7 клеток в каждой. Выделительная система редий представлена двумя собирательными каналами, тянущимися от

глотки до самого заднего конца тела. Нам удалось рассмотреть до 60 мерцательных клеток, беспорядочно разбросанных по всему телу молодой редии. В задней части тела расположены многочисленные генеративные клетки. За счет дробления последних образуются зародышевые шары, количество которых у разных особей колеблется от 6 до 50. Тело старых редий часто принимает четковидную форму (рис. 3, б). В местах вздутый полость тела редий заполнена зародышевыми шарами. Кишечник и слюн-

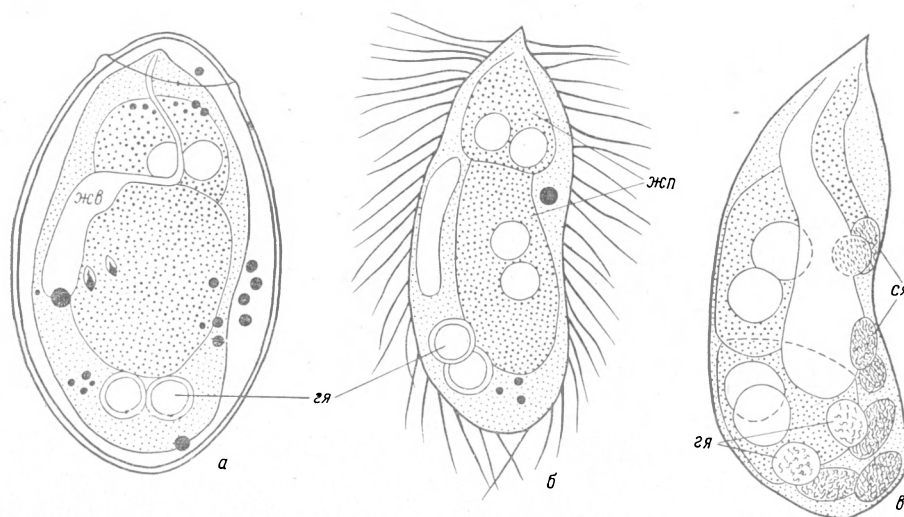


Рис. 2. Мирацидий *M. intermedius*.

а — мирацидий в яйце; б — мирацидий, вышедший из яйца; в — тотальный препарат мирацидия; ся — соматические ядра; гя — генеративные ядра; жсв — железа выплывания; жсп — железы проникновения.

ные железы у старых особей, по-видимому, дегенерируют. Сенсиллы у редий не обнаружены.

Церкария *M. intermedius* (рис. 4) относится к группе *Pleurolophocerca*. Она обладает сильно сократимым и изменчивым по форме телом и длинным гибким хвостом. В спокойном состоянии тело личинки удлиненоовальное ( $0.188-0.234$  мм), передний конец его несколько сужен. В тканях содержится большое количество зерен темно-коричневого пигмента. Покровы

тела церкарии несут небольшие кутикулярные шипики, которые расположены в шахматном порядке и прослеживаются до уровня задней границы желез проникновения. Тегумент хвоста личинки не вооружен.

На переднем конце тела субтерминально расположена хорошо развитая присоска ( $0.035-0.046 \times 0.030-0.044$  мм), обладающая способностью сильно выпячиваться и втягиваться. На дорзальной стенке присоски локализируются 18—20 шипов проникновения, расположенных так, что они образуют фигуру трапеции. Эти шипы в 2—2.5 раза крупнее шипиков тела и направлены вперед и вентрально. Зачаток брюшной присоски расположен вентрально за железами проникновения, непосредственно перед мочевым пузырем.

Зачаток пищеварительной системы развит очень слабо. Пищевод и кишечник отсутствуют. Имеется лишь глотка, лежащая медианно позади глаз.

Железистые образования церкарии представлены клетками трех типов: железы проникновения, цистогенные и мукоидные железы. 7 пар желез проникновения занимают среднюю часть тела церкарии. Клетки этих желез крупные, овальные с пузырьковидным ядром и зернистой цитоплазмой. Их выводные протоки, проходящие над ротовой присоской, распадаются на 4 группы. Латеральные группы содержат по 3, а медиальные по 4 протока, отверстия которых располагаются у дорзального края ротовой присоски впереди от шипов проникновения. Шипы проникновения и секрет желез проникновения обеспечивают внедрение церкарии во второго промежуточного хозяина. По бокам тела расположены крупные цистогенные железы с грубо зернистой цитоплазмой. Их по 18 с каждой стороны. Секрет этих желез идет на образование цисты метацеркарии. Мукоидные железы функционируют у церкарий только в период их паразитирования в печени и гемолимфе моллюска. У описторхоидных церкарий эти железы были впервые описаны Крейдениром (Kruidenier, 1953). Церкария *M. intermedius*, так же как и другие виды семейства *Opisthorchiidae*, обладает пятью парами мукоидных желез. 4 из них лежат в передней трети тела перед зачатком брюшной присоски, 5 — позади него.

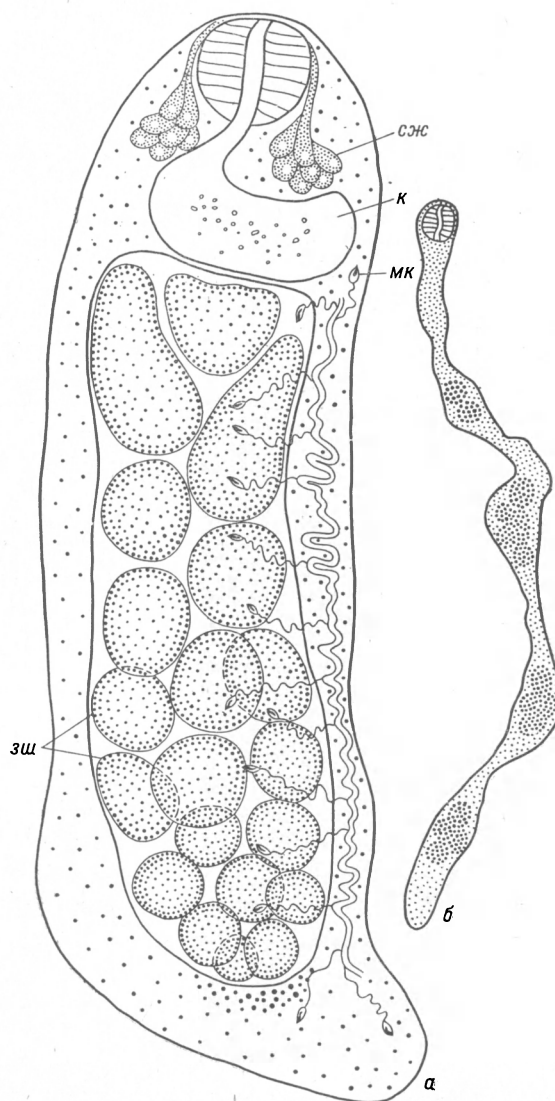


Рис. 3. Строение редии *M. intermedius*.

а — молодая редия; б — старая редия; к — кишечник; сж — слюнные железы; зш — зародышевые шары; мк — мерцательные клетки.

В период своего наибольшего развития клетки этих желез имеют неправильную форму с многочисленными отростками. Секрет мукоидных желез образует вокруг тела личинки защитный слизистый чехол.

Нервная система церкарии представлена центральным отделом и отходящими от него нервными стволами и отростками (рис. 5). Централь-

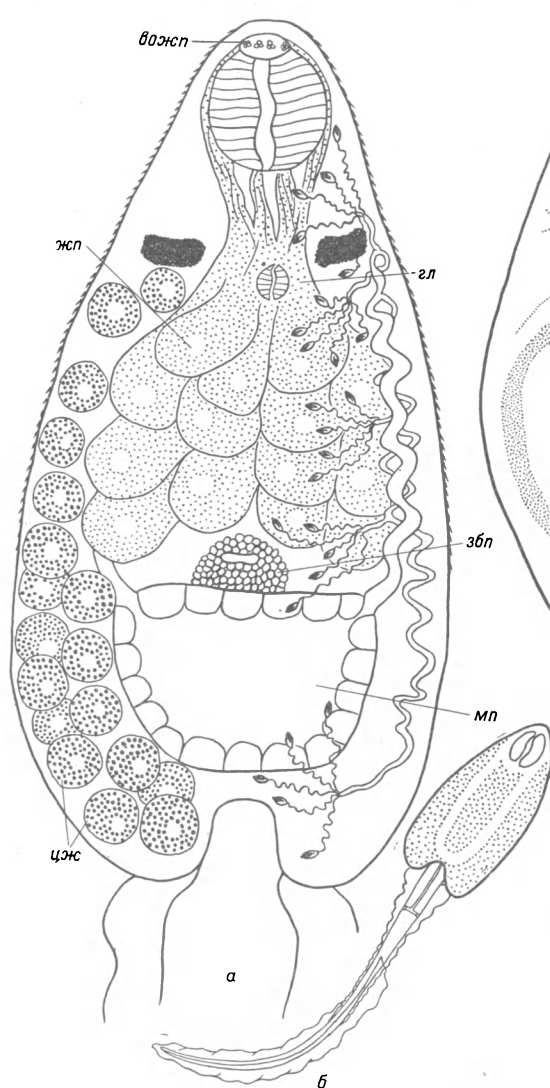


Рис. 4. Церкария *M. intermedius*.

а — морфология; б — расположение пигмента; гл — глотка; жп — железы проникновения; цжс — цистогенные железы; вожп — выводные отверстия желез проникновения; збп — зачаток брюшной присоски; мп — мочевого пузыря.

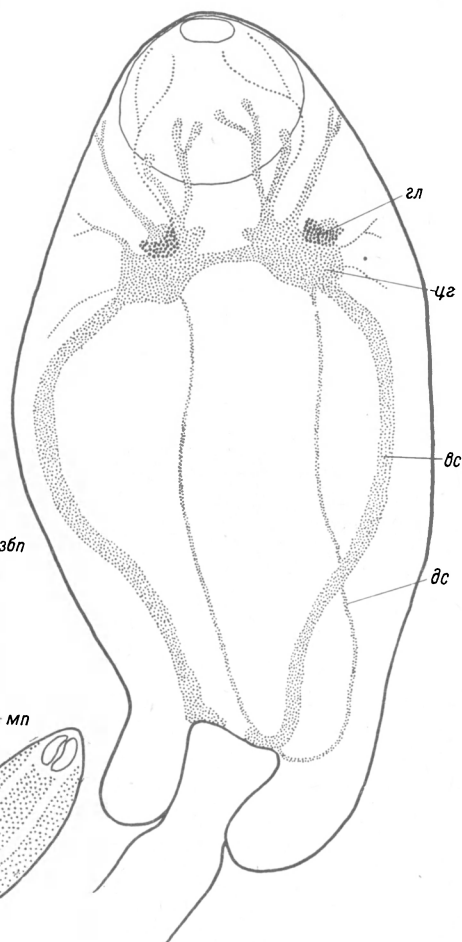


Рис. 5. Строение нервной системы церкарии *M. intermedius*.

гл — глаза; цг — центральные ганглии; вс — вентральный ствол; дс — дорсальный ствол.

ный отдел лежит прямо под глазами, он состоит из двух крупных ганглиев, соединенных короткой комиссурой. Назад от центрального отдела отходит 4 нервных ствола: пара толстых вентральных и пара более тонких дорсальных. Последние смыкаются перед основанием хвоста. Вентральные же стволы заканчиваются перед его основанием небольшими утолщениями.

Вперед от центральных ганглиев отходит 4 пары нервных веточек, которые, видимо, являются продолжением дорсальных нервных стволов. 2 пары толстых медианных, заканчивающихся утолщениями, и следующая за ними очень тонкая и длинная пара веточек, по-видимому, иннервируют ротовую присоску, на поверхности которой они ветвятся. Ла-

теральная пара заканчивается по бокам от ротовой присоски. Сбоку от ганглиев отходит еще по 2 тонких и коротких нервных отростка.

Органы чувств церкарии *M. intermedius* представлены глазными пятнами и сенсиллами. 2 глазных пятна, состоящих из крупных сферических гранул темно-коричневого пигмента, расположены на спинной стороне тела за ротовой присоской.

Сенсиллы личинки сосредоточены в основном в передней части и по бокам тела. На брюшной стороне (рис. 6, а) сенсилл немного и они расположены строго симметрично. На ротовой присоске сенсиллы образуют несколько концентрических венчиков, а на теле располагаются в виде двух шестиугольников, имеющих общую сторону. На спинной стороне (рис. 6, б) сенсиллы располагаются симметрично только до уровня глазных пятен, где они сгруппированы по 2 и по 3 по бокам от присоски. Позади них образуемый сенсиллами рисунок становится менее правильным, сенсиллы сосредоточены главным образом по бокам тела широкими продольными рядами по 21—23 сосочкам в каждом. Кроме того, ближе к медианной линии тела располагается пара сенсилл непосредственно за глазами, 4 на уровне середины тела и пара по обе стороны от каудального кармана. Впереди от последних имеется еще 6 сенсилл, расположенных шестиугольником. Количество и положение сенсилл на спинной стороне может несколько варьировать.

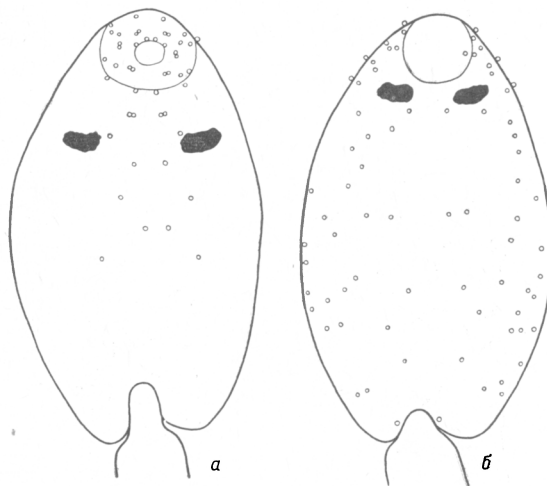


Рис. 6. Расположение сенсилл на теле церкарии *M. intermedius*.

а — с брюшной стороны; б — со спинной стороны.

Выделительная система церкарии имеет довольно сложное строение (рис. 4). Экскреторная формула  $2[(5+5)+(5+5+5)]=50$ .

Мерцательные клетки расположены симметрично вдоль тела группами по 5. От каждой клетки отходит капилляр. Капилляры клеток каждой группы, сливаясь, образуют короткие протоки, которые впадают в продольные передние и задние собирательные каналы. Каждый из передних каналов образуется за счет слияния протоков двух групп клеток, расположенных между ротовой присоской и железами проникновения. В каждый продольный канал, идущий от заднего конца тела, впадают протоки от трех групп клеток. Одна из них расположена в средней части тела и сильно маскируется железами проникновения, вторая — между железами проникновения и мочевым пузырем, и третья группа — в самом заднем конце тела личинки. Передние и задние собирательные каналы сливаются на уровне глотки и дают начало главным собирательным каналам. Последние впадают сбоку в мочевой пузырь. Это крупный толстостенный орган, занимающий заднюю треть тела личинки. Мочевой пузырь открывается в каудальный карман экскреторной порой.

В хвосте мерцательные клетки отсутствуют. В проксимальной части хвоста у личинок, только что вышедших из моллюска, можно различить экскреторный канал в виде перевернутой буквы «Т». По-видимому, этот канал не функционирует. По данным Хасси (Hussey, 1941), Кунтца (Kuntz, 1952) и Ла Рю (La Rue, 1957), каудальный экскреторный канал зарастает на поздних стадиях формирования личинки, а на дне каудального кармана формируется вторичная экскреторная пора.

Хвост церкарии (0.357—0.469 мм) прикрепляется субтерминально на дне глубокого каудального кармана. Он одет прозрачным, тонко исчерченным в виде колец тегументом, который значительно утолщен в передней трети, где образует своеобразный бугорок.

На придавленной покровным стеклом церкарии эта часть ее покровов уплощается так, что производит впечатление двух, довольно широких складок по бокам проксимальной части хвоста. Конец хвоста снабжен тонкой плавниковой амембраной. Она начинается на дорзальной стороне хвоста, примерно на расстоянии одной трети длины от его основания, несколько сужаясь, огибает его кончик и заканчивается

на середине вентральной поверхности. Максимальная ширина дорзальной части мембраны 12 мк, вентральной — 9 мк. Проксимальная часть хвоста богата снабжена поперечно-полосатыми мускульными волокнами.

**М е т а ц е р к а р и я.** Сформированная метацеркария *M. intermedius*, извлеченная из цисты, имеет удлиненоовальную форму и сильно пигментирована. Покровы, одевающие ее тело, вооружены кутикулярными шипами, которые доходят до заднего края брюшной присоски (рис. 7).

Ротовая и брюшная присоски хорошо развиты, почти равных размеров (0.072—0.090 мм). Ротовая присоска терминальная, брюшная располагается чуть кзади от середины тела.

Пищеварительная система хорошо развита. Глотка овальная, мускулистая, размером 0.023—0.030 мм. Пищевод короткий, по длине приблизительно равен глотке. Ветви кишечника достигают заднего конца тела. Они заполнены дискоидальными прозрачными гранулами, которые часто слипаются вместе напоподобие столбиков эритроцитов. Сходные по виду гранулы описаны разными авторами (Vogel, 1934; Kōmiya and Tajimi, 1961; Vajrastira et al., 1961) и у других метацеркарий семейства *Opisthorchiidae*. Значение этих образований не ясно. Между местом бифуркации кишечника и брюшной присоской расположены железистые

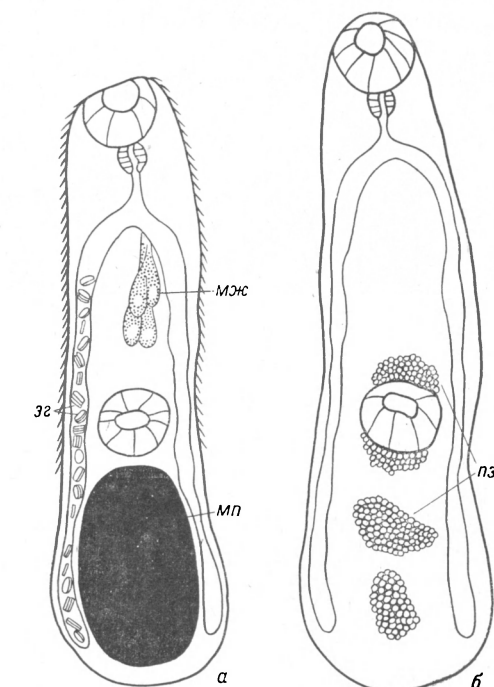


Рис. 7. Метацеркария *M. intermedius*.

а — рисунок с живого объекта; б — тотальный препарат; мж — метацеркарные железы; зг — экскреторные гранулы; мп — мочевой пузырь; пз — половые зачатки.

клетки с зернистой цитоплазмой и крупными пузырьковидными ядрами.

В задней трети тела находится крупный продольно-овальный мочевой пузырь. У зрелой метацеркарии клетки, выстилающие его стенку, сильно увеличиваются в размерах и выпячиваются в полость пузыря. Этим они резко отличаются от клеток стенки мочевого пузыря метацеркарии *Opisthorchis felineus*, которые на этой стадии развития уплощены (Vogel, 1934). Мочевой пузырь заполнен мелкими, сильно преломляющими свет гранулами, что делает его совершенно непрозрачным. Ход экскреторных каналов и расположение мерцательных клеток прослежен неполностью. Однако известно, что на фазе метацеркарии происходит увеличение числа мерцательных клеток при сохранении общего плана строения, заложенного у церкарии (Vogel, 1934; Kōmiya a. Tajimi, 1961, и др.).

Половая система 15-дневной метацеркарии представлена слабо дифференцированными зачатками. 2 группы клеток с крупными ядрами



в области экскреторного пузыря, по-видимому, являются зачатками семенников. Группа клеток позади брюшной присоски представляет собой зачаток яичника, а впереди нее — зачаток матки.

### Л и т е р а т у р а

- Гинецинская Т. А. и Добровольский А. А. 1963. Новый метод обнаружения сенсилл личинок трематод и значение этих образований для систематики. ДАН СССР, 151 (2): 460—463.
- Добровольский А. А. 1967. Жизненные циклы некоторых трематод семейств Telorchidae и Plagiorchiidae. Дисс. канд. биол. наук, ЛГУ: 1—172.
- Дубинин В. Б. 1952. Фауна личинок паразитических червей позвоночных животных дельты реки Волги. Паразитол., сб. ЗИН АН СССР, 14: 213—265.
- Котикова Е. А. 1967. Гистохимический метод изучения морфологии нервной системы у плоских червей. Паразитол., 1 (1): 79—81.
- Heinemann E. 1937. Über den Entwicklungskreislauf der Trematodengattung Metorchis sowie Bemerkungen zur Systematik dieser Gattung. Zeitschr. f. Parasitenk., 9 (2): 237—260.
- Hussey K. L. 1941. Comparative embryological development of the excretory system in digenetic trematodes. Trans. Amer. Microscop. Soc., 60 (1): 171—210.
- Ito I. a. Watanabe K. 1958. On the cercaria of Centrocestus armatus (Tanabe, 1922), Yamaguti, 1933, especially on its mucoid glands (Heterophyidae, Trematoda). Japan. J. Med. Sci. and Biol., 11 (1—2): 21—29.
- Комия Я. а. Тајимі Т. 1961. The excretory system of Digenetic Trematodes. Tokyo: 1: 300.
- Kruidenier F. I. 1953. Studies on the formation and function of mucoid glands in cercaria Opisthorchoid cercariae. Journ. Parasitol., 34 (4), sect. 1: 385—391.
- Kuntz R. 1952. Embryonic development of the excretory system in a Pleurolophocercous (Acanthostomatid) cercaria, three Stylet cercaria, a brevicaudate and a longicaudate Dicrocoeliid cercaria) and a microcaudate Eucotylid cercaria. Trans. Amer. Microscop. Soc., 71 (1): 45—61.
- La Rue G. 1957. The classification of Digenetic Trematoda: a review and a new system. Exper. Parasitol., 6 (3): 306—349.
- Vajrasthira S., Harinasuta C. a. Komiya Y. 1961. The morphology of the metacercaria of Opisthorchis viverrini, with special reference to the excretory system. Ann. Trop. Medicine and Parasitol., 55 (4): 413—418.

### THE MORPHOLOGY OF DEVELOPMENTAL PHASES OF THE TREMATODE METORCHIS INTERMEDIUS (OPISTHORCHIIDAE) FROM THE CORMORANT

N. B. Vishkvartseva

### S U M M A R Y

The paper concerns an experimental infection of *Bithynia tentaculata* by eggs of *Metorchis intermedius* from the cormorant *Phalacrocorax carbo* L. The life cycle of *M. intermedius* has been studied. Molluscs *Bithynia tentaculata* are the first intermediate host, fishes of the family *Cyprinidae* are the second one. Fish-eating birds (Anatids, cormorants and others) are definitive hosts. A detailed description and figures of the phases of development are given.